

Implicación del óxido
nítrico en la patogénesis
de la enfermedad de
Alzheimer

Role of nitric oxide in the
pathogenesis of
Alzheimer's disease

Nerea Rodríguez González

CURSO ACADÉMICO 2019-2020

ABREVIATURAS

AAC, angiopatía amiloide cerebral

ADN, ácido desoxirribonucleico

ADMA, dimetil-arginina asimétrica (asymmetric dimethylarginine)

APP, proteína precursora de amiloide (amyloid precursor protein)

APOE, apolipoproteína E

ASK, enzima reguladora de la señal de apoptosis (apoptosis signal-regulating kinase)

ATP, adenosín trifosfato

BACE1, β -secretasa 1 (beta-site amyloid precursor protein cleaving enzyme 1)

BDNF, factor neurotrófico derivado del cerebro (brain-derived neurotrophic factor)

BH4, tetrahidrobiopterina

BHE, barrera hematoencefálica

CAMs, moléculas de adhesión celular (cell adhesion molecules)

CBF, flujo sanguíneo cerebral (cerebral blood flow)

CDK5, cinasa dependiente de ciclina 5 (cyclin dependent kinase 5)

CD68, cúmulo de diferenciación 68

CEMC, células endoteliales microvasculares cerebrales

DAMPs, patrones moleculares asociados a daño (damage-associated molecular patterns)

DCL, déficit cognitivo leve

EA, enfermedad de Alzheimer

ERO, especies reactivas de oxígeno

ET-1, endotelina 1

FAD, flavín adenín dinucleótido

FMN, flavín mononucleótido

GCs, guanilato ciclasa soluble

GLUT-1, transportador de glucosa 1 (glucose transporter 1)

GM-CSF, factor estimulante de colonias de granulocitos y monocitos (granulocyte macrophage colony-stimulating factor)

GMPC, guanosín monofosfato cíclico

GSK3 β , glucógeno sintasa cinasa 3 β (glycogen synthase kinase 3 β)

GSNO, S-nitrosoglutatión

(HIF)-1 α , factor 1- α inducible por hipoxia (hypoxia-inducible transcriptional factor 1- α)

HSP90, proteína de choque térmico de 90 KDa (heat shock protein 90 KDa)

Iba-1, molécula adaptadora de unión al calcio (Ionized calcium binding adaptor molecule 1)

ICAM, molécula de adhesión intercelular (intercellular adhesion molecules)

INF, interferón

IL, interleucina

IRE-1, enzima que requiere inositol (inositol-requiring enzyme 1)

JAM, moléculas de adhesión de la unión

JNK, cinasa que fosforila la proteína c-Jun (c-Jun N-terminal kinase)

L-NAME, N (G)-nitro-L-arginina metil éster

LRP1, proteína 1 relacionada con el receptor de lipoproteína de baja densidad (low density lipoprotein receptor-related protein 1)

LRP2, proteína 2 relacionada con el receptor de lipoproteína de baja densidad (low density lipoprotein receptor-related protein 2)

MCP-1, proteína quimioatrayente de monocitos 1 (monocyte chemoattractant protein-1)

MHCII, complejo mayor de histocompatibilidad II (major histocompatibility complex)

MIP-1 β , proteína inflamatoria de macrófagos-1 β (macrophage inflammatory protein-1 β)

MMP, metaloproteinasas de la matriz

NADPH, nicotinamida adenina dinucleótido fosfato

NF κ B, factor nuclear Kappa B

NMDA, N-metil-D-aspartato

NO, óxido nítrico

NOi, óxido nítrico inducido

NOe, óxido nítrico endotelial

NOS, óxido nítrico sintasa

NOSe, óxido nítrico sintasa endotelial

NOSe -/-, NOSe deficiente

NOSi, óxido nítrico sintasa inducible

NOSn, óxido nítrico sintasa neuronal

NOX, enzima NADPH oxidasa

PDEs, fosfodiesterasas

PDGF-B, subunidad B del factor de crecimiento derivado de plaquetas (platelet-derived growth factor subunit B)

Péptido A β , péptido β -amiloide

P-gp, glucoproteína P

PKB, proteína cinasa B

PKG, proteína cinasa G

PS1, presenilina 1

PS2, presenilina 2

RAGE, receptor de productos finales de glicosilación avanzada (receptor for advanced glycosylation end products)

SNC, sistema nervioso central

SNAP, S-nitroso-N-acetilpenicilamina

TJ, unión estrecha (tight junction)

TNF, tumor necrosis factor (factor de necrosis tumoral)

UNV, unidad neurovascular

VCAM, molécula de adhesión celular vascular (vascular cell adhesion molecule)

VEGF, factor de crecimiento endotelial vascular (vascular endothelial growth factor)

ZO, zonula occludens

ÍNDICE

| | |
|---|----|
| 1. RESUMEN..... | 1 |
| 1.1. Palabras clave | 1 |
| 2. ABSTRACT | 2 |
| 2.2. Key words | 2 |
| 3. INTRODUCCIÓN | 3 |
| 3.1. Enfermedad de Alzheimer (EA) | 3 |
| 3.2. Sintomatología..... | 4 |
| 3.3. Fisiopatología..... | 5 |
| 4. OBJETIVOS | 10 |
| 5. METODOLOGÍA..... | 11 |
| 6. RESULTADOS/DESARROLLO DEL TRABAJO | 13 |
| 6.1. Unidad neurovascular (UNV)..... | 13 |
| 6.2. Óxido nítrico (NO) y disfunción endotelial | 17 |
| 6.2.1. Óxido nítrico (NO). Síntesis y funciones | 17 |
| 6.2.2. Disfunción endotelial y modificación del óxido nítrico endotelial (NOe)..... | 19 |
| 6.2.3. Óxido nítrico endotelial (NOe) y neurodegeneración | 28 |
| 6.2.4. Posibilidades terapéuticas | 32 |
| 7. DISCUSIÓN | 34 |
| 8. CONCLUSIONES | 36 |
| 9. BIBLIOGRAFÍA | 37 |
| 10. AGRADECIMIENTOS..... | 42 |

1. RESUMEN

La enfermedad de Alzheimer (EA) es una de las demencias neurodegenerativas primarias más prevalentes. Distintas hipótesis intentan explicar los mecanismos moleculares que conducen a esta patología. Una de las hipótesis más recientes plantea la disfunción de la barrera hematoencefálica (BHE) y la disminución del flujo sanguíneo cerebral (CBF), mediadas por la alteración de la microvasculatura cerebral, como responsables de su desarrollo. La disfunción a nivel endotelial se presenta como una disminución en la biodisponibilidad de óxido nítrico endotelial (NOe). El óxido nítrico (NO) está implicado en la función cardiovascular, neuronal e inmunitaria por lo que la vía de señalización NO/GMPc podría ser el punto de unión entre las alteraciones vasculares y la EA. Algunas alteraciones vasculares a nivel endotelial, como el estrés oxidativo y la disfunción mitocondrial, la hipoperfusión/hipoxia o la inflamación, modifican los niveles de NOe y se asocian con la neurodegeneración. La función neuroprotectora del NOe señala a la vía NO/GMPc como una posibilidad terapéutica en la prevención y tratamiento de la EA.

1.1. Palabras clave

Enfermedad de Alzheimer, hipótesis vascular, óxido nítrico, disfunción endotelial, neurodegeneración.

2. ABSTRACT

Alzheimer's disease (AD) is one of the most prevalent primary neurodegenerative dementias. Different hypotheses attempt to explain the molecular mechanisms that lead to this pathology. One of the most recent hypotheses raises the dysfunction of the blood brain barrier (BBB) and the decrease in cerebral blood flow (CBF) mediated by the alteration of brain microvasculature, as responsible for its development. Endothelial dysfunction occurs as a decrease in the bioavailability of endothelial nitric oxide (NO_e). Nitric oxide (NO) is involved in cardiovascular, neuronal and immune function so the NO/GMPc signaling pathway could be the point of binding between vascular alterations and AD. Some vascular alterations at the endothelial level, such as oxidative stress and mitochondrial dysfunction, hypoperfusion/hypoxia or inflammation, modify NO_e levels and are associated with neurodegeneration. The neuroprotective function of NO_e points to the NO/GMPc pathway as a therapeutic possibility in the prevention and treatment of AD.

2.2. Key words

Alzheimer's disease, vascular hypothesis, nitric oxide, endothelial dysfunction, neurodegeneration.

3. INTRODUCCIÓN

3.1. Enfermedad de Alzheimer (EA)

El sistema nervioso central (SNC) posee propiedades únicas que le permiten tener un control preciso de la homeostasis, así como una función neuronal adecuada y protección frente a patógenos. Las alteraciones en su funcionamiento conducen a enfermedades neurológicas entre las que destacan, por su prevalencia y su impacto social, las enfermedades neurodegenerativas (1).

La demencia es un síndrome discapacitante adquirido que se caracteriza por un deterioro progresivo en múltiples dominios cognitivos y es lo suficientemente grave como para interferir con las actividades diarias. Puede tener varias etiologías siendo la causa más frecuente la enfermedad de Alzheimer (EA). Esta es una enfermedad neurodegenerativa primaria, de origen desconocido, que se caracteriza fundamentalmente por el deterioro progresivo de la memoria y de otras funciones cognitivas (2, 3).

Según el Informe mundial sobre el Alzheimer 2019, más de 50 millones de personas padecen demencia en todo el mundo, una cifra que se estima que aumentará a 152 millones en 2050 debido al aumento de la esperanza de vida y al envejecimiento de la población (4, 5). La EA representa entre el 60-80% de todos los casos de demencia (6).

La prevalencia e incidencia de la EA aumentan de forma exponencial a partir de los 65 años. De este modo, la edad es el principal factor de riesgo. Otros factores de riesgo son el género, pues se observa una mayor prevalencia en mujeres (5, 6), los genéticos y los de tipo vascular vinculados al estilo de vida como son la obesidad y la adiposidad, la hipercolesterolemia, la hipertensión arterial y la diabetes mellitus tipo 2, entre otros (7).

Teniendo en cuenta lo anterior, la EA es un importante problema de salud con un gran impacto social, sanitario y económico (6) en el que los tratamientos farmacológicos actuales tienen una efectividad y duración limitada y no consiguen detener el daño neuronal que causa los síntomas (8).

3.2. Sintomatología

La sintomatología clínica de la EA afecta a tres ámbitos: alteraciones cognitivas, alteraciones funcionales y alteraciones psicológicas y del comportamiento (9).

Entre los síntomas más comunes se encuentran la alteración de la memoria, pues los pacientes pierden capacidad para aprender información nueva o no recuerdan información aprendida con anterioridad, y las alteraciones cognitivas como la afasia (alteraciones en el lenguaje), la apraxia (incapacidad de realizar movimientos coordinados) y la agnosia (alteración en el reconocimiento visual, auditivo o táctil) (9). También presentan problemas para realizar las tareas diarias (en su casa, en el trabajo o en su tiempo libre), problemas de desorientación de tiempo o lugar, así como cambios en su personalidad y en el estado anímico (8).

Aunque los síntomas avancen a ritmos distintos según los pacientes, a medida que avanza la enfermedad, las capacidades cognitivas van disminuyendo (8). En las primeras etapas aparecen alteraciones a nivel cerebral, pero no se detecta una disminución en la actividad cognitiva. Si la enfermedad avanza, se pasa a una etapa de deterioro cognitivo leve (DCL) y seguidamente a demencia (figura 1) (7).

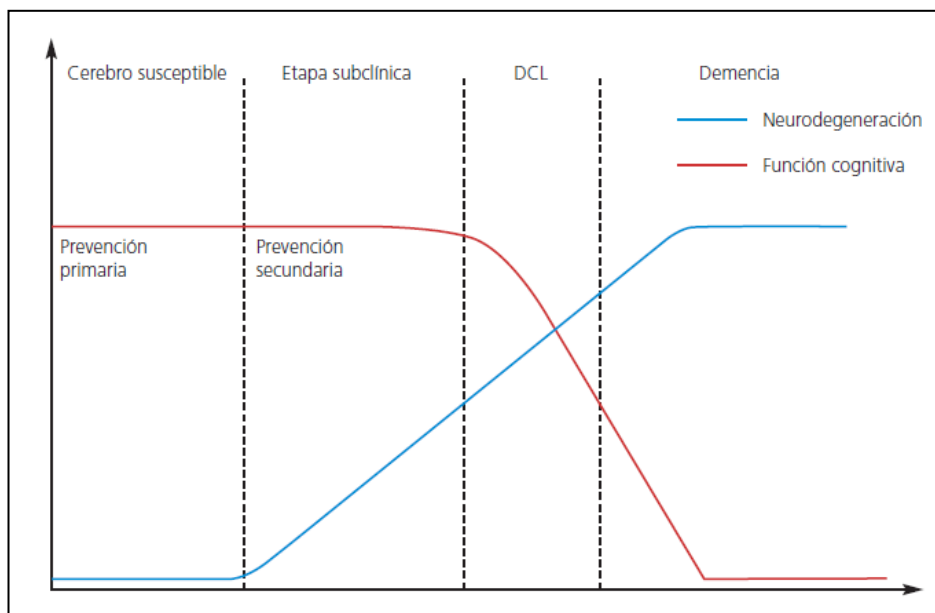


Figura 1. Curso de la patología. **Fuente:** Toledo Atucha J. Epidemiología descriptiva y analítica de la enfermedad de Alzheimer. Alzheimer. Real Invest Demenc. 2011;47:16-23.

3.3. Fisiopatología

Las características histopatológicas de la EA son las placas amiloides y los ovillos neurofibrilares. Además, en la EA se observa una atrofia de la corteza cerebral que se debe a la pérdida de neuronas corticales y subcorticales y de conexiones dendríticas, sobre todo en la corteza y en el hipocampo (10).

La etiología de la enfermedad no se conoce con precisión, pero se han planteado diferentes hipótesis para explicar su origen.

- **Hipótesis amiloide**

La hipótesis de la cascada amiloide plantea que el péptido β -amiloide (péptido A β) es responsable de la disfunción y muerte neuronal que da lugar a la neurodegeneración y a la demencia. El péptido A β se produce a partir de la proteína precursora de amiloide (APP) cuyo procesamiento proteolítico puede darse por dos vías (figura 2):

- **Vía no amiloidogénica:** La APP se escinde por la acción sucesiva de la α -secretasa y la γ -secretasa dando lugar a un péptido soluble (p3). Es la vía más frecuente.
- **Vía amiloidogénica:** La APP se escinde por la acción de la β -secretasa (BACE1) y posteriormente por la γ -secretasa. Esta última puede actuar en diferentes posiciones dando lugar a un péptido A β que puede tener entre 37 y 49 aminoácidos. El que se produce en mayor proporción es A β -40 y, en menor, A β -42 (11). A β -40 es más abundante y menos neurotóxico que A β -42 que es altamente insoluble, neurotóxico y más propenso a la agregación (12). Estos péptidos pueden agregarse en pequeñas estructuras oligoméricas, para posteriormente, formar las características placas amiloides de la EA (11).

Las placas amiloides se sitúan extracelularmente y la relación entre su densidad y la gravedad de la enfermedad es escasa. El daño neuronal se cree que es mediado por la activación de la microglía y la liberación de citocinas neurotóxicas, la alteración del metabolismo energético y la desregulación del metabolismo de la glucosa y de la homeostasis del calcio (11, 12).

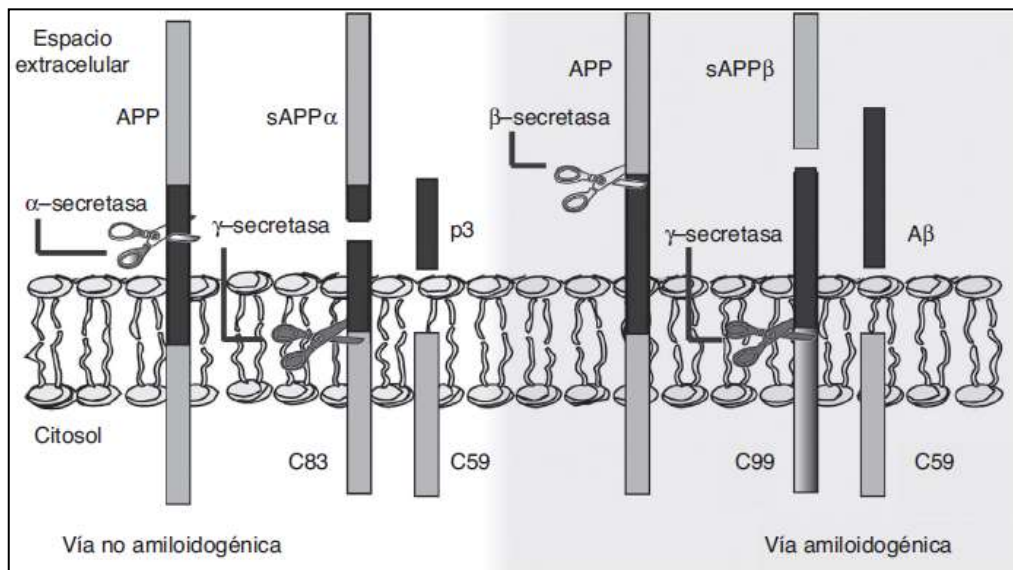


Figura 2. Mecanismos de procesamiento de la proteína precursora de amiloide (APP): vía no amiloidogénica y vía amiloidogénica. **Fuente:** Rius-Pérez S, Tormos AM, Pérez S, Taléns-Visconti R. Patología vascular: ¿causa o efecto en la enfermedad de Alzheimer? Neurología. 2018;33(2):112-120.

Existen mutaciones en tres genes diferentes que codifican la APP y las presenilinas 1 y 2 (PS1 y PS2), estas dos últimas constituyen subunidades del complejo de la γ -secretasa. Estas mutaciones darían lugar a la EA familiar favoreciendo la producción de formas más tóxicas de péptido A β (12). Otro gen, responsable de los casos genéticos esporádicos, es el de la apolipoproteína E (APOE), en concreto el alelo APOE4. Estas proteínas intervienen en la degradación del péptido A β , siendo el alelo APOE4 el menos eficaz. En pacientes portadores de 2 alelos de APOE4 se ha demostrado mayor deposición de placas amiloides (7, 11).

- Tau hiperfosforilada

Los ovillos neurofibrilares son estructuras intracelulares formadas por la proteína Tau hiperfosforilada. La proteína Tau se asocia a los microtúbulos para formar una red microtubular estable. En la EA, esta proteína se hiperfosforila perdiendo la capacidad de unirse a los microtúbulos y estabilizarlos. Como consecuencia, el transporte axonal se reduce, impidiendo una comunicación normal entre las neuronas y produciéndose disfunción y muerte neuronal. El péptido A β puede inducir la fosforilación de Tau mediante la activación de cinasas (glucógeno sintasa cinasa 3 β (GSK3 β) y la cinasa dependiente de ciclina 5 (CDK5)) contribuyendo a la neurodegeneración neuronal (11, 13).

- **Hipótesis colinérgica y glutamatérgica**

En los pacientes de EA se observa una pérdida selectiva de neuronas colinérgicas en el núcleo basal de Meynert en el prosencéfalo basal y de axones que proyectan a la corteza cerebral (14). Esta pérdida de neuronas colinérgicas se relaciona con el deterioro cognitivo, ya que la acetilcolina es un neurotransmisor implicado en los procesos de memoria, aprendizaje y atención, entre otros. Esto explica el empleo de los inhibidores de colinesterasas como uno de los principales tratamientos (13).

La neurotransmisión glutamatérgica fisiológica en el hipocampo, produce una señal de calcio citosólico que media la plasticidad sináptica, promoviendo el aprendizaje y la memoria. La disfunción neuronal puede derivarse en parte de la excitotoxicidad causada por valores de glutamato elevados de forma constante, que causa activación excesiva de los receptores de glutamato (NMDA); o por el aumento de la sensibilidad al glutamato, lo que da lugar a un incremento del flujo de calcio que llega a las neuronas, al deterioro de la homeostasis neuronal y a la neurodegeneración (15).

- **Daño oxidativo e inflamación**

La EA está muy asociada con el estrés oxidativo. El cerebro está más expuesto que otros tejidos a las especies reactivas de oxígeno (ERO), porque utiliza más oxígeno. La disfunción mitocondrial y el estrés oxidativo causan un aumento de la producción de ERO que provoca estrés oxidativo celular, incluyendo el aumento de la oxidación de proteínas, la nitración de proteínas, la glucooxidación y la peroxidación de lípidos, así como la acumulación de péptido A β (13).

Como consecuencia de la deposición continua de péptido A β se activan la microglía y astrocitos produciendo varias moléculas proinflamatorias, que incluyen citocinas, factores de crecimiento, factores del complemento, quimiocinas y moléculas de adhesión celular; esto provoca una reacción inflamatoria crónica que contribuye al daño neuronal (16).

- **Hipótesis vascular**

La hipótesis vascular es una alternativa a la hipótesis amiloide y postula que la disfunción a nivel vascular podría favorecer el desarrollo de la EA. Así, las placas amiloides y los ovillos neurofibrilares no serían la causa de la EA sino, su consecuencia. Esta hipótesis se planteó al observarse, en pacientes con esta patología, una disminución del flujo sanguíneo cerebral (CBF), del metabolismo de la glucosa y del consumo de oxígeno cerebral (11).

La hipótesis vascular (figura 3) plantea que el daño primario en la microvasculatura cerebral es suficiente para iniciar una vía no amiloidogénica de lesión neuronal y neurodegeneración, mediada por la disfunción en la barrera hematoencefálica (BHE) y la disminución en el CBF. Como consecuencia se produce la acumulación de sustancias neurotóxicas, como el péptido A β , e hipoperfusión capilar que pueden dar lugar a la disfunción neuronal temprana (17,18).

Por otro lado, la disfunción vascular provoca también una elevación de la expresión de APP, resultando en un aumento de la producción del péptido A β , que unido a la disminución en su aclaramiento, conduce a su acumulación. Este incremento de péptido A β acelera la neurodegeneración y la demencia. Además, el péptido A β y/o la hipoperfusión pueden inducir la hiperfosforilación de la Tau (17, 18).

Por lo tanto, las vías dependientes o independientes del péptido A β pueden actuar sinérgicamente o no, finalizando en neurodegeneración y demencia. En ambas vías influyen factores de riesgo vasculares, genéticos y el estilo de vida (18).

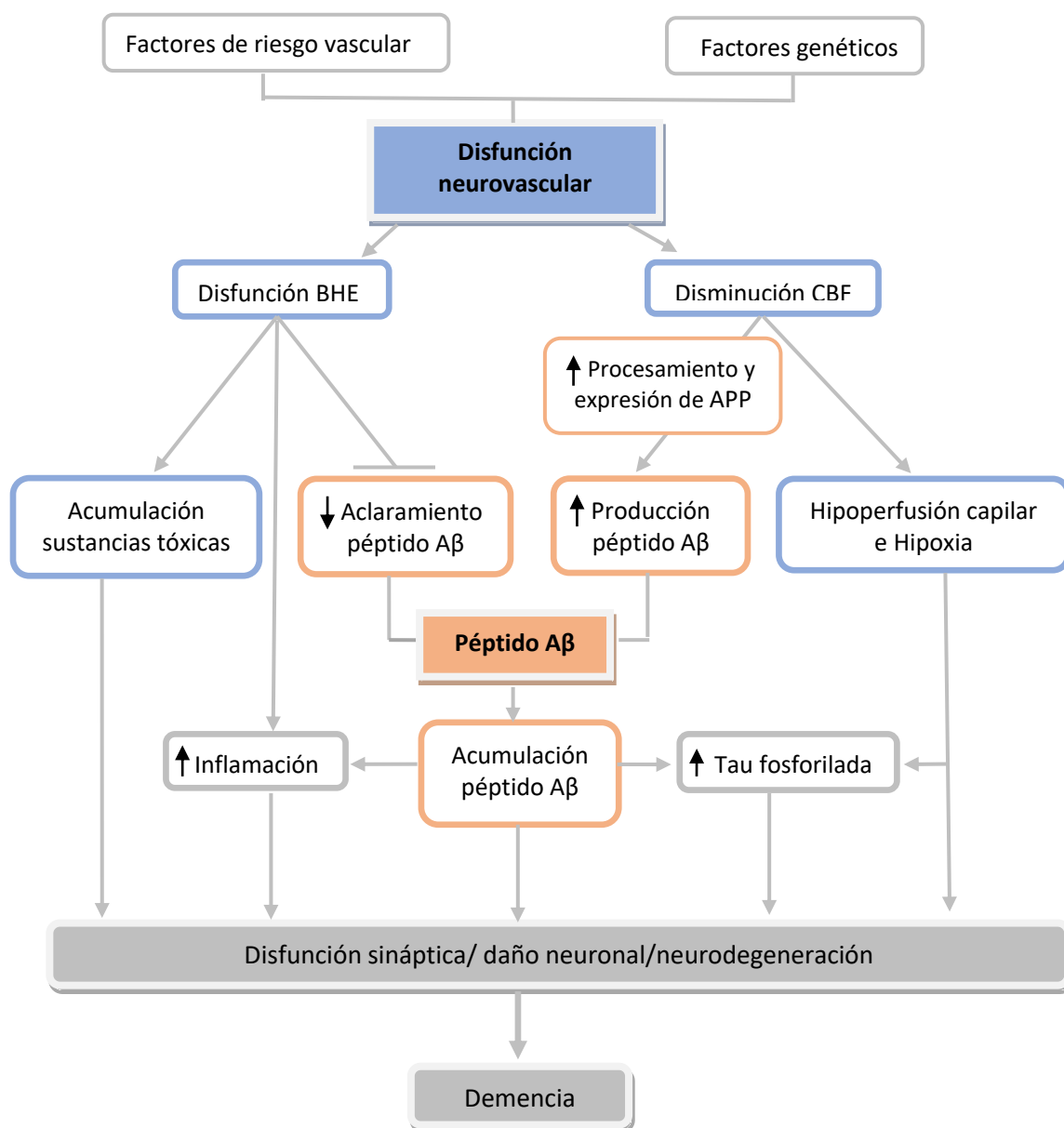


Figura 3. Hipótesis vascular. **Fuente:** modificada de Nelson AR, Sweeney MD, Sagare AP, Zlokovic BV. Neurovascular dysfunction and neurodegeneration in dementia and Alzheimer's disease. *Biochim Biophys Acta*. 2016;1862(5):887-900.

4. OBJETIVOS

El objetivo general de esta revisión es analizar la implicación del óxido nítrico (NO) en la patogénesis de la EA. En la primera parte, tomando como base la hipótesis vascular, se revisan las causas de la disfunción endotelial que dan lugar a modificaciones en los niveles de óxido nítrico endotelial (NOe) para posteriormente, en la segunda parte, analizar su participación como punto de unión entre la disfunción a nivel endotelial y la neurodegeneración.

5. METODOLOGÍA

Se empleó la base de datos PubMed.

Para obtener una información general, se limitó la búsqueda a revisiones de los últimos 3 años y a texto completo, empleando los términos: “dementia AND Alzheimer” (1747 resultados), “prevalence of Alzheimer” (397 resultados), “epidemiology of Alzheimer” (220 resultados), “Alzheimer hypothesis” (227 resultados).

Posteriormente, limitando la búsqueda a artículos de revisión de los 10 últimos años y a texto completo, se utilizaron los términos: “blood brain barrier AND neurovascular disorders” (171 resultados), “neurovascular unit AND Alzheimer” (86 resultados), “nitric oxide synthase” (741 resultados), “nitric oxide brain” (374 resultados) “endothelial nitric oxide and dementia” (19 resultados), “endothelial nitric oxide AND neurodegeneration” (62 resultados), “endothelial dysfunction AND dementia” (89 resultados), “microglial AND Alzheimer” (210 resultados) y “endothelial nitric oxide AND cognitive function” (22 resultados).

A continuación, para obtener más información sobre algunos aspectos, se amplió la búsqueda a cualquier tipo de artículos, no solo revisiones, limitando los resultados a texto completo y a los 10 últimos años, empleando los términos: “endothelial nitric oxide AND Alzheimer” (72 resultados), “Alzheimer's disease treatment AND phosphodiesterase inhibitor” (85 resultados) y “nitric oxide donors AND Alzheimer” (26 resultados).

Se empezó revisando los artículos correspondientes al último año. La selección de todos los artículos para este trabajo, se realizó tras leer los títulos, el resumen y comprobar qué aportaban a la revisión. En caso necesario, se amplió la revisión también a los artículos de años anteriores, que fueron seleccionados siguiendo la misma metódica.

Para completar la revisión se emplearon los libros “Tratado de geriatría para residentes”, “Enfermedad de Alzheimer. Del diagnóstico a la terapia: conceptos y hechos” y “Rang y Dale Farmacología”; el buscador Google académico, empleando los términos “impacto social del Alzheimer”, “mecanismos moleculares en Alzheimer” y “alteraciones endoteliales Alzheimer”, lo que permitió obtener un informe sobre el impacto mundial del Alzheimer, un artículo acerca de los mecanismos moleculares del Alzheimer y una tesis sobre las alteraciones en el endotelio y la

glía y el buscador Google, empleando el término de búsqueda “impacto mundial del Alzheimer 2019” obteniendo el informe mundial sobre el Alzheimer 2019.

6. RESULTADOS/DESARROLLO DEL TRABAJO

6.1. Unidad neurovascular (UNV)

El consumo de oxígeno y glucosa por el cerebro representa aproximadamente un 20% del consumo total del organismo; por tanto, una adecuada regulación del CBF es fundamental para su correcto funcionamiento. Este CBF está regulado por la unidad neurovascular (UNV) (18).

La vasculatura cerebral presenta una estructura única para permitir un continuo CBF. Se compone de las arterias piales, que se ramifican en arterias penetrantes dando lugar a arteriolas y estas, a su vez, se ramifican en una red de capilares, garantizando el aporte nutricional (figura 4). Las arterias piales y penetrantes están rodeadas por el espacio cerebroespinal, constituyendo los espacios perivasculares o espacios de Virchow-Robin a lo largo de su curso. A medida que las arteriolas se convierten en capilares, el espacio perivascular desaparece, haciendo que la pared capilar sea adyacente al parénquima (19, 20).

En los capilares cerebrales, las células endoteliales que forman la estructura de los túbulos constituyen la BHE. Los tubos endoteliales están rodeados de astrocitos, pericitos y neuronas, que componen la UNV (20).

La integridad de la BHE es fundamental y su disfunción puede contribuir a la EA. Además de las alteraciones en el endotelio, los cambios en la lámina basal que separa el endotelio de otras células de la UNV, así como en los astrocitos o en otras células, pueden originar trastornos neurodegenerativos asociados a patologías microcirculatorias (19). Las prolongaciones de los astrocitos forman los pies perivasculares, situados alrededor de los capilares, que ayudan a fortalecer la integridad de la BHE, constituyen un enlace celular entre la actividad neuronal y los microvasos, denominado acoplamiento neurovascular, y son clave en la regulación del CBF (20-22). Los pericitos, células con capacidad contráctil, dan apoyo estructural y capacidad vasodinámica a la microvasculatura, proporcionando estabilidad a la pared vascular y siendo importantes en el mantenimiento de la integridad estructural de la BHE (19, 21).

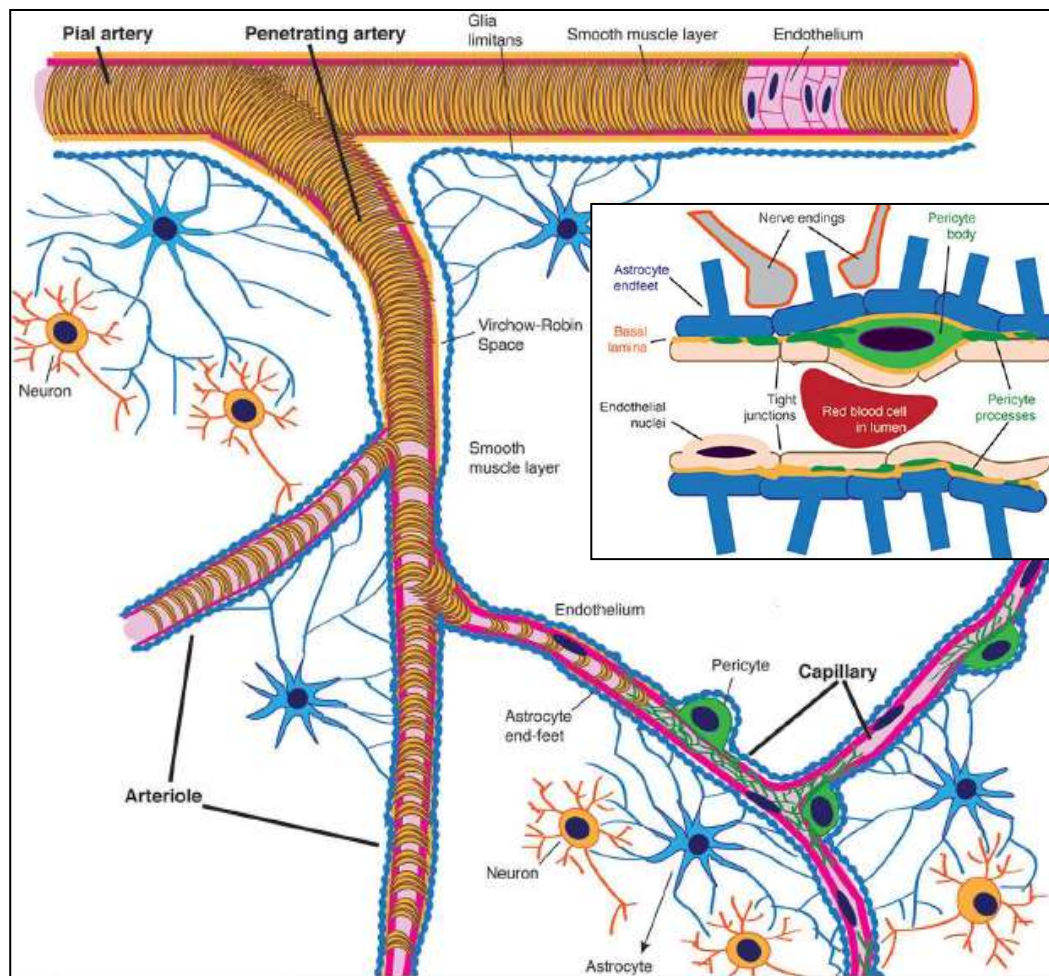


Figura 4. Estructura de la vasculatura cerebral. **Fuente:** modificada de Erdener ŞE, Dalkara T. Small Vessels Are a Big Problem in Neurodegeneration and Neuroprotection. Front Neurol. 2019;10:889.

Las células endoteliales de la microvasculatura cerebral (CEMC) carecen de fenestraciones, pero disponen de, al menos, tres tipos de unión entre células: en hendidura, adherentes y uniones estrechas (TJ) (figura 5). Estas TJ están formadas por tres tipos de proteínas integrales de membrana: claudina, ocludina y moléculas de adhesión de la unión (JAM), así como por otras proteínas citoplasmáticas accesorias como zonula occludens (ZO) y cingulina que se unen a la actina, proteína fundamental del citoesqueleto para el mantenimiento estructural y funcional del endotelio (20-22).

El componente principal de las TJ es la claudina, de la que existen tres isoformas (3, 5 y 12) siendo la claudina-5 la más abundante en las CEMC. Además, otras proteínas de membrana, las cadherinas, forman uniones adherentes que son importantes en el control de la permeabilidad endotelial y en la extravasación de leucocitos en la BHE (20).

Esta estructura limita la actividad transcelular y la permeabilidad paracelular, impidiendo el paso a compuestos hidrofílicos. La vía lipofílica transcelular permitirá la difusión pasiva de moléculas lipofílicas, oxígeno y dióxido de carbono, la vía mediada por proteínas transportadoras permitirá la difusión facilitada de glucosa, aminoácidos y nucleósidos, mientras que la endocitosis mediada por receptores y endocitosis adsorbente permitirá el transporte de macromoléculas mediante vesículas (20, 22, 23).

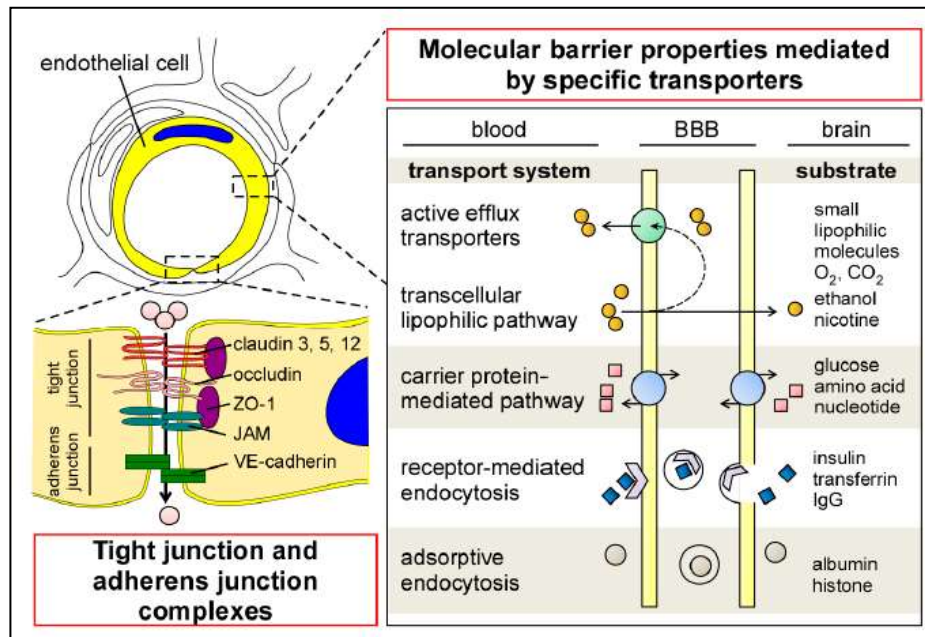


Figura 5. Uniones estrechas y adherentes de las células endoteliales. **Fuente:** Yamazaki Y, Kanekiyo T. Blood-Brain Barrier Dysfunction and the Pathogenesis of Alzheimer's Disease. Int J Mol Sci. 2017;18(9):1965.

- Funciones

Las funciones principales de la BHE son la protección del cerebro frente a compuestos perjudiciales circulantes en la sangre, evitando su paso gracias a las TJ endoteliales, el transporte selectivo de sustancias desde la sangre hasta el parénquima cerebral y la metabolización de sustancias del SNC y de la sangre (21).

- Alteraciones

Las alteraciones en las células vasculares pueden afectar a la correcta funcionalidad de las neuronas y sus sinapsis al provocar cambios en la permeabilidad de la BHE, la llegada de los nutrientes, la degradación deficiente de moléculas tóxicas o en el CBF (11).

La alteración de la permeabilidad puede deberse a los niveles disminuidos de las proteínas de TJ o unión adherente causados probablemente por una elevada expresión de las metaloproteinasas de la matriz (MMP) vascular que degradan estas proteínas (11). El péptido A β también puede interrumpir la organización de estas proteínas (20). Además, alteraciones en los sistemas de transporte selectivo, como una disminución en la expresión del transportador de glucosa 1 (GLUT-1), pueden iniciar la interrupción temprana de la BHE, reflejada en una reducción de las TJ y también contribuir al descenso de sustratos metabólicos (11,20).

La BHE es importante en la regulación de los niveles de péptido A β (11). Las CEMC median su transporte mediante la expresión de receptores y transportadores, como el receptor de los productos finales de glicosilación avanzada (RAGE), la proteína 1 relacionada con el receptor de lipoproteína de baja densidad (LRP1) y la glicoproteína-P (P-gp) (20).

RAGE es un receptor transmembrana que se localiza en el endotelio cerebrovascular y media el transporte del péptido A β desde la sangre hasta el cerebro. Se expresa en casi todos los tipos celulares cerebrales, pero en la EA la inmunorreactividad del RAGE endotelial está aumentada (20), incrementando el efecto patogénico del péptido A β (11). Contrariamente, los transportadores P-gp y LRP-1, situados en la zona luminal y abluminal del endotelio cerebral, permiten la eliminación del péptido A β . En los pacientes con EA, la expresión de LRP-1 y la función o expresión de P-gp están reducidas, disminuyendo el aclaramiento del péptido A β desde el cerebro (20, 24). Durante la EA, el receptor LRP1 se oxida mediante un mecanismo oxidativo en el que puede estar implicado el propio péptido A β . Por otro lado, la APOE4 bloquea el transporte mediado por este receptor favoreciendo la acumulación del péptido (11).

Además, la proteína 2 relacionada con el receptor de lipoproteína de baja densidad (LRP2), está implicada en la endocitosis del péptido A β y su transporte a través de la BHE. Su expresión está reducida en la EA, facilitando la acumulación de este.

Por tanto, la pérdida de la integridad neurovascular supone una disminución del aclaramiento del péptido A β cerebral, siendo las alteraciones en la expresión de proteínas implicadas en su transporte, uno de los factores que contribuyen al desarrollo de enfermedades neurodegenerativas (24).

En condiciones normales, los cambios de flujo están estrechamente acoplados a la actividad neuronal a través de un conjunto de mecanismos integrados dentro de la UNV: la actividad neuronal en sí, directamente regula el CBF o bien el mecanismo de regulación es consecuencia de una mayor actividad metabólica (17).

Como consecuencia de los factores de riesgo vascular se puede producir hipoperfusión, una disminución progresiva del CBF (18). En pacientes con EA se encontraron disfunciones del tejido vascular (disminución de la densidad microvascular, modificaciones en el diámetro o engrosamiento de la membrana basal) que dificultan el CBF, dando como resultado lesiones neurodegenerativas como las placas amiloides o los ovillos neurofibrilares (11). Además, se altera la síntesis de proteínas neuronales necesarias para la plasticidad sináptica, proceso implicado en el aprendizaje y la memoria (18).

La hipoperfusión puede disminuir la disponibilidad de oxígeno desencadenando la formación de ERO (11); como consecuencia, se produce una alteración en el metabolismo y en la producción de adenosín trifosfato (ATP) necesario para los sistemas de transporte (18).

A su vez, la producción excesiva de ERO origina estrés oxidativo que es una causa de la disfunción endotelial y la disminución del CBF, al disminuir la biodisponibilidad de NOe.

Las ERO pueden provocar activación microglial con la consiguiente liberación de citocinas proinflamatorias. En la EA se observa un aumento de los factores inflamatorios debido, probablemente, a las alteraciones de las funciones metabólicas o a la exposición de las CEMC al péptido A β . La acumulación de péptido A β , a su vez, puede estar precedida por mediadores inflamatorios, relacionando la disfunción vascular con la lesión neuronal y la inflamación (11).

Debido a las evidencias que muestran que la disfunción vascular contribuye al deterioro cognitivo de la EA, la investigación de los mecanismos implicados, como el mediado por el NO, podría ayudar a la obtención de alternativas terapéuticas (11).

6.2. Óxido nítrico (NO) y disfunción endotelial

6.2.1. Óxido nítrico (NO). Síntesis y funciones

El NO está implicado en un gran número de funciones destacando la regulación cardiovascular, neuronal e inmunitaria. Se sintetiza por las enzimas óxido nítrico sintasas (NOS) que oxidan L-arginina para dar lugar a citrulina y NO. Las tres isoformas de la NOS necesitan cuatro cofactores

para su correcto funcionamiento que son flavín mononucleótido (FMN), flavín adenín dinucleótido (FAD), nicotinamida adenina dinucleótido fosfato (NADPH) y la tetrahidrobiopterina (BH4) (25, 26):

- **NOS neuronal (NOS-1 o NOSn):** Se expresa de forma constitutiva en las neuronas y su función se regula por Ca^{+2} y calmodulina. Está implicada en la regulación de funciones fisiológicas como la memoria, el aprendizaje, la neurogénesis y el tono vascular. Cuando es estimulada por una concentración de Ca^{+2} masiva, los altos niveles de NO producidos pueden contribuir a la excitotoxicidad o producir agotamiento de energía por inhibición de la respiración mitocondrial y de la glicólisis (26).

La vía NO/guanosín monofosfato cíclico (GMPc) es fundamental en el proceso de aprendizaje y memoria. Durante el envejecimiento y en la EA se observan cambios en la vía Ca^{+2} /NO/GMPc que se asocian a una menor plasticidad y función cognitiva, además de un aumento de las fosfodiesterasas (PDEs), enzimas que degradan el GMPc y provocan una disminución en su concentración (27).

- **NOS inducible (NOS-2 o NOSi):** Es inducida en astrocitos, macrófagos y microglía por estímulos inmunológicos o inflamatorios (citocinas, lipopolisacáridos bacterianos). No está regulada por Ca^{+2} y una producción excesiva provoca vasodilatación arteriolar, hipotensión y daño en la microvasculatura (25).
- **NOS endotelial (NOS-3 o NOSe):** Se expresa principalmente en las células endoteliales. Produce NO de manera pulsátil regulada por Ca^{+2} y calmodulina (26). Su actividad está además regulada por otras proteínas, como la proteína de choque térmico de 90 kDa (HSP90), que promueve su acoplamiento, o la caveolina-1 que inhibe su actividad. Esta enzima también puede ser activada por estímulos que no producen aumento sostenido de Ca^{+2} intracelular. Así, NOSe puede ser fosforilada en los residuos de serina, treonina y tirosina aumentando la sensibilidad de la enzima al Ca^{+2} . La proteína cinasa B (PKB) es la única que ha demostrado regular la función de NOSe en vivo (26).

La activación de esta isoforma de NOS protege de la inflamación, previene la agregación de plaquetas, trombosis y apoptosis. Además, preserva de la enfermedad cerebrovascular manteniendo un CBF adecuado mediante su acción vasodilatadora (28).

Una vez que el NO es producido, difunde al músculo liso y activa la guanilato ciclasa soluble (GCs). Como consecuencia, se produce GMPc que activa la proteína cinasa G (PKG) activando varias cascadas de señales y produciendo vasodilatación (figura 6). Este mecanismo de control fisiológico funciona a niveles bajos de NO. Por el contrario, niveles elevados de NO van a dar lugar a peroxinitrito, un radical muy tóxico (29).

Las CEMC generan sustancias vasoactivas como NO o endotelina 1 (ET-1), manteniendo así la homeostasis cerebral y regulando el CBF. En muchos pacientes expuestos a factores de riesgo vascular, se ha detectado una disfunción en la relajación dependiente de endotelio antes que cualquier otro cambio en la pared del vaso, lo que implica que el daño endotelial precede a otras alteraciones (30).

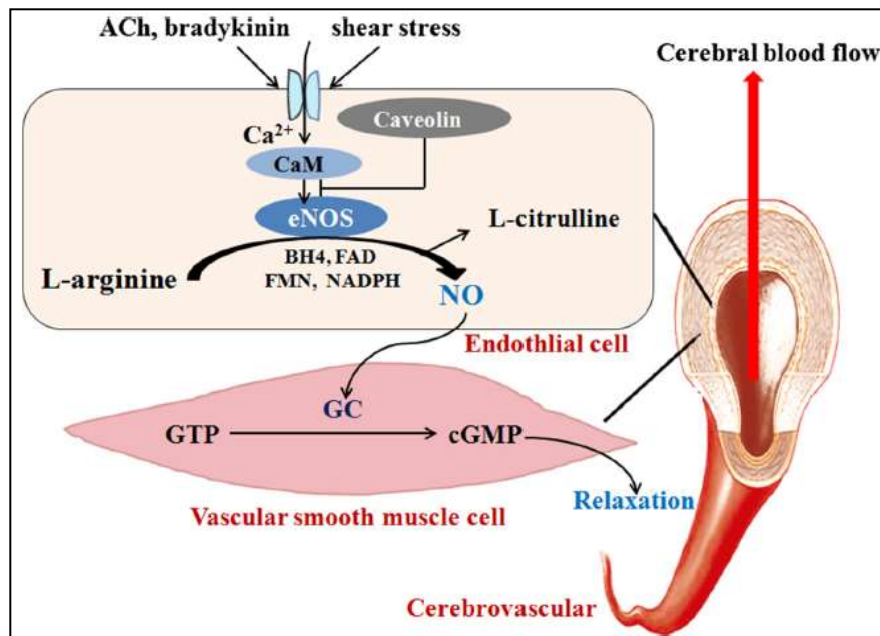


Figura 6. Óxido nítrico sintasa endotelial (NOSe) y su función en el mantenimiento del flujo sanguíneo cerebral (CBF). **Fuente:** Zhu J, Song W, Li L, Fan X. Endothelial nitric oxide synthase: a potential therapeutic target for cerebrovascular diseases. Mol Brain. 2016;9(1):30.

6.2.2. Disfunción endotelial y modificación del óxido nítrico endotelial (NOe)

Como se ha comentado previamente, la hipoperfusión, el estrés oxidativo o un proceso inflamatorio pueden estar en el origen del daño endotelial en la BHE. Dado que la vía de señalización NO/GMPc está involucrada en estos procesos, es interesante estudiar si el NO podría ser el vínculo entre el daño en el endotelio y en la BHE y la neurodegeneración.

El daño endotelial se presenta como una disminución en la producción o biodisponibilidad de NOe y, además, es una característica común de la EA que puede contribuir o ser la causa de la enfermedad neurológica, debido a que la producción de NOe se considera el mecanismo más importante para mantener la función vasomotora (28). A continuación, se exponen algunos factores que pueden contribuir a la disfunción endotelial modificando los niveles de NOe.

- **Estrés oxidativo y disfunción mitocondrial**

El estrés oxidativo es una de las principales alteraciones vasculares que se observan en el envejecimiento y en enfermedades neurodegenerativas como la EA. Un desequilibrio entre la producción de las ERO y su neutralización provoca una alteración en la UNV, lo que predispone a enfermedades neurodegenerativas (31). El cerebro es más vulnerable al daño inducido por las ERO debido a su alta tasa de consumo de oxígeno, alto contenido de lípidos poliinsaturados y escasez de enzimas antioxidantes (32).

Hay varias fuentes de ERO como son la cadena mitocondrial de transporte de electrones y las enzimas ciclooxigenasa, lipoxigenasa, reductasas del citocromo P450, xantina oxidasa, NOS y NADPH oxidasas (NOX). Las principales fuentes de ERO en las células endoteliales son las mitocondrias y NOX (31).

A través de la apertura de los canales de K⁺ mitocondriales dependientes de ATP, la activación mitocondrial lleva al aumento transitorio de Ca⁺² que activa mecanismos que protegen a la UNV del estrés letal. La producción de ERO por las mitocondrias tiene efectos similares (33).

Aunque las mitocondrias son productores constantes de ERO, durante el envejecimiento y algunas enfermedades neurodegenerativas, incluida la EA, las mitocondrias dañadas no pueden mantener las demandas energéticas celulares, lo que puede llevar a una producción elevada de ERO, induciendo la interrupción de la fosforilación oxidativa y originando niveles disminuidos de ATP. Durante la EA, se observa una menor abundancia y alteraciones estructurales en las mitocondrias de las CEMC (31-33).

Las ERO a niveles bajos son fundamentales en el mantenimiento de la función normal de la vasculatura cerebral actuando como vasodilatadores, inductores de mecanismos de defensa o reguladores del CBF. Por el contrario, una producción elevada de ERO contribuye al aumento de la disfunción endotelial y de la permeabilidad de la BHE, origina un aumento de la apoptosis y

provoca una disminución de la vasodilatación, de la respuesta inmune, de la expresión de la NOSe y de la biodisponibilidad de NO (31).

La producción elevada de ERO causa una disminución de la biodisponibilidad de NO probablemente por su reacción con el superóxido (O_2^-) y posterior generación de peroxinitrito ($ONOO^-$). El peroxinitrito causa daño oxidativo, nitración y S-nitrosilación en proteínas, lípidos y ácidos nucleicos (11, 31). También puede oxidar la GCs y reducir su reactividad frente al NO, lo que lleva a una mayor pérdida de señalización mediada por NO (23) y, además, provoca la oxidación de uno de los cofactores de la NOS (la BH_4) dando lugar al desacople de estas enzimas (31). El desacoplamiento de la NOSe, debido al estrés oxidativo, la convierte en una enzima que genera O_2^- en lugar de NO (26).

Los mecanismos que conducen a este desacoplamiento incluyen, además, el agotamiento de la L-arginina y la acumulación de metilargininas endógenas, así como la S-glutationilación (26).

La deficiencia de L-arginina puede deberse a la actividad excesiva de las arginasas, unas enzimas expresadas por las células endoteliales que compiten con la NOSe por la L-arginina originando su deficiencia y el desacople de la NOSe. Por otra parte, una mayor producción de ERO, podría aumentar los niveles de la dimetil-arginina asimétrica (ADMA), al aumentar la actividad de las enzimas implicadas en su producción e inhibir las implicadas en su degradación. ADMA, es una metilarginina endógena que se asocia con la inhibición y el desacoplamiento de la NOSe (26) y, además, favorece el estrés oxidativo y el daño vascular (34). Las condiciones de estrés oxidativo promueven la S-glutationilación de las proteínas. La S-glutationilación de la NOSe causa su desacoplamiento y una menor producción de NOe (26).

Los niveles elevados de ERO, además, pueden aumentar la señalización de la cinasa Rho, interfiriendo así con la expresión y actividad de la NOSe y afectando a la producción de NOe (31).

Bajo condiciones de estrés irreversible, como aumento de los niveles de ERO o alteración de la homeostasis del Ca^{+2} , las células endoteliales activan señales proapoptóticas (cinasa que fosforila la proteína c-Jun/cinasa serina-treonina (JNK/p38) o caspasa-12). La proteína 1 que requiere inositol, IRE-1, activa las señales proapoptóticas a través de una cinasa reguladora de apoptosis (ASK). Esta, a su vez, inhibe la NOSe causando deficiencia de NOe (35).

Además, la disfunción mitocondrial origina una producción de ATP deficiente, lo que afecta a determinados mecanismos de transporte. La alteración de la función de la bomba de sodio (Na^+/K^+ , ATPasa) y calcio (Ca^{+2} , ATPasa) provoca un desajuste en la concentración de Ca^{+2} afectando a la actividad de la NOSe y a la permeabilidad de la BHE, mientras que la alteración de los transportadores ABC afecta a la llegada de nutrientes al cerebro, así como a la eliminación del péptido A β (36). De este modo, la sobreproducción mitocondrial de ERO favorece la deposición de péptido A β en la pared de los vasos (31).

El péptido A β inducido por estrés oxidativo o nitrosativo en las células endoteliales también es responsable del daño en el ADN, resultando, en última instancia, en un aumento de Ca^{+2} (31). Esta alteración de la homeostasis del Ca^{+2} y el estrés oxidativo, probablemente alteren la producción de NO (36).

La inactivación de la NOSe podría aumentar la producción de péptido A β al aumentar la expresión de APP. Sin embargo, un estudio realizado en animales plantea la función protectora de la APP demostrando que, bajo condiciones fisiológicas, la expresión de APP en el endotelio vascular mantiene la expresión constitutiva de NOSe (37).

Por otro lado, se observó que tras la administración de fragmentos de péptido A β a CEMC, se obtiene como resultado la producción de ERO, el bloqueo de la fosforilación de la NOSe y la reducción en la producción de NO. Esto se debe a que el péptido A β promueve la interacción de la NOSe con su regulador, la HSP90, lo que se asoció con una disminución en la interacción de HSP90 con PKB. La interacción disminuida HSP90/PKB sugiere que la chaperona permanece vinculada a la NOSe impidiendo su unión eficaz a PKB. Estas alteraciones pueden ser resultado del estrés oxidativo, puesto que al tratar las células con un antioxidante se revierten los efectos recuperándose la fosforilación de la NOSe y la interacción PKB/HSP90. Además, el péptido A β evita que la NOSe utilice NADPH (cofactor requerido para su actividad) (38). La disminución de NOe perjudica, a su vez, el CBF local (36).

En situaciones patológicas, una producción elevada de ERO causa la pérdida de integridad de la BHE, interfiriendo con la homeostasis cerebral y aumentando la deposición de péptido A β en las paredes vasculares. Estas alteraciones en las características de la BHE, asociadas al estrés oxidativo y procesos inflamatorios, contribuyen al deterioro cognitivo y, finalmente, al desarrollo de patologías neurodegenerativas (figura 7) (31).

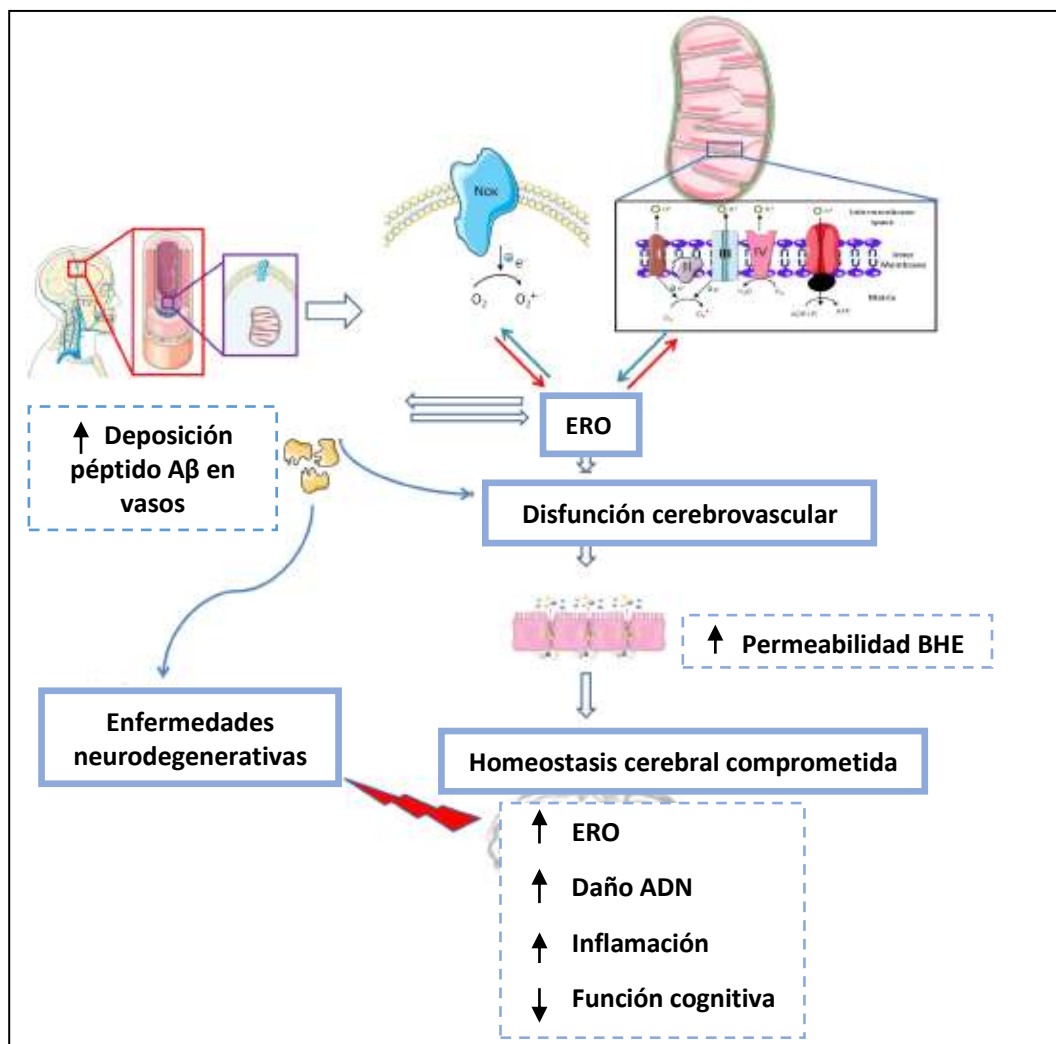


Figura 7. Estrés oxidativo y disfunción cerebrovascular. **Fuente:** modificado de Carvalho C, Moreira PI. Oxidative Stress: A Major Player in Cerebrovascular Alterations Associated to Neurodegenerative Events. Front Physiol. 2018;9:806.

- Hipoperfusión / hipoxia

Distintos factores de riesgo vascular causan disminución del CBF; como resultado, se genera hipoxia. Esta aumenta la expresión del factor 1- α inducible por hipoxia (HIF)-1 α , el cual aumenta la expresión de la BACE1 y, por consiguiente, de péptido A β . La acumulación de péptido A β en las paredes de los vasos, denominada angiopatía amiloide cerebral (AAC), causa, a su vez, hipoperfusión. Se produce una retroalimentación positiva, mediante la cual, la hipoperfusión cerebral conduciría a una mayor acumulación de péptido A β , lo que agravaría la disfunción vascular y ocasionaría inflamación y estrés oxidativo (figura 8) (11, 39). Aunque el péptido A β induce el aumento del factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF), también altera la

capacidad de los vasos de regenerarse después de una lesión, siendo la angiogénesis aberrante una característica patológica de la EA (40).

Las células endoteliales vasculares, neuronas y glía pueden sintetizar, almacenar y liberar ERO y sustancias vasoactivas en respuesta a ciertos estímulos como hipoxia/hipoperfusión crónica. Estas ERO conducen al deterioro de la barrera endotelial facilitando la adhesión de leucocitos y alterando la función vascular (31).

La hipoperfusión sostenida y el estrés oxidativo de los tejidos cerebrales, podrían también estimular la sobreexpresión de NOSi y NOSn en las células cerebrales y la ET-1 en las células endoteliales. La ET-1, aumentada en la EA, tiene acciones inflamatorias y proliferativas, inhibe la NOSe y antagoniza y reduce la liberación de NO (31, 32).

Por otro lado, en áreas cerebrovasculares de acumulación del péptido A β , se han encontrado cambios estructurales, como el engrosamiento de la membrana basal vascular, que también influyen en el desarrollo y progresión de la EA, al alterar el transporte de sustancias (39).

Se ha demostrado que las alteraciones en las CEMC que causen la separación de los astrocitos de la membrana basal, podrían favorecer la inhibición de los transportadores que facilitan la eliminación del péptido A β y la formación de depósitos perivasculares del mismo (39).

Además de causar disfunción endotelial, el péptido A β puede dañar otros componentes de la UNV. Así, el péptido A β causa daño y apoptosis de glía y neuronas. El estrés oxidativo vascular, inducido por la acumulación de péptido A β , es un factor patogénico en la enfermedad cerebrovascular. Se sugiere que los radicales libres producidos por NOX son responsables de las alteraciones cerebrovasculares inducidas por el péptido A β , como la disfunción mitocondrial y el estrés oxidativo en astrocitos y microglía (39).

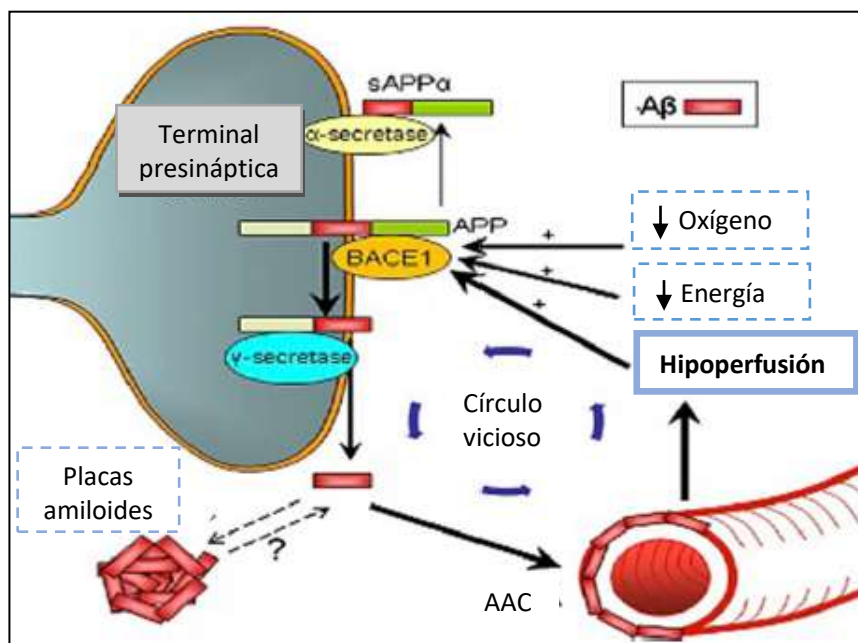


Figura 8. Hipoperfusión/hipoxia y disfunción endotelial. **Fuente:** modificada de Kelleher RJ, Soiza RL. Evidence of endothelial dysfunction in the development of Alzheimer's disease: Is Alzheimer's a vascular disorder? Am J Cardiovasc Dis. 2013;3(4):197-226.

Tras una lesión, los astrocitos y la microglía producen altos niveles de ERO que afectan negativamente en la expresión de moléculas implicadas en la integridad de la BHE, como la ZO-1. En condiciones patológicas, los pericitos son susceptibles de daño por estrés oxidativo, y se ha demostrado apoptosis de pericitos por la producción de ERO debida a la activación microglial (31).

Por otro lado, los pericitos son esenciales para las células endoteliales y, al mismo tiempo, estas están implicadas en la proliferación y migración de los pericitos mediante la liberación del factor de crecimiento derivado de plaquetas B (PDGF-B). Una pérdida de pericitos puede tener consecuencias nocivas en las células endoteliales y en la permeabilidad de la BHE. Se ha demostrado que determinados factores vasculares como la hipertensión, conducen a la pérdida de pericitos, y estos a su vez, causan la muerte de las células endoteliales empeorando la disfunción vascular, causando regresión de los microvasos y generando una situación de hipoxia crónica (41).

- **Inflamación y microglía**

Con la edad, se producen cambios en la microglía que contribuyen a la inflamación, aumentando la producción de citocinas inflamatorias, ERO y NOi que, a niveles elevados, es neurotóxico porque induce estrés oxidativo, disfunción mitocondrial y excitotoxicidad. La activación microglial se ve favorecida por factores de riesgo cardiovascular como la hipoxia o la hipertensión, factores ambientales, enfermedades o un síndrome metabólico, originando estrés oxidativo, neuroinflamación, agregación de péptido A β y disfunción neuronal (32, 42).

Por tanto, la activación de la microglía se relaciona con la aparición de patologías neurodegenerativas, pues aumenta la neurotoxicidad y disminuyen sus funciones protectoras (figura 9) (42).

Las células microgliales se pueden activar a través de receptores para patrones moleculares asociados a daño (DAMPs). Las moléculas, como el péptido A β , pueden activar la microglía mediante receptores DAMPs, como el receptor RAGE. Como resultado de la activación de estos receptores, aumenta la expresión de citocinas proinflamatorias que causan daño endotelial y neuroinflamación. El factor de transcripción nuclear kappa B (NF κ B) controla el perfil inflamatorio de las células microgliales y media la respuesta neuroinflamatoria favoreciendo, por ejemplo, la ruptura de la BHE (43).

La microglía y los astrocitos activados son fuentes endógenas conocidas de citocinas en la EA. Sin embargo, cada vez hay más evidencia de que los microvasos cerebrales también son capaces de expresar mediadores inflamatorios.

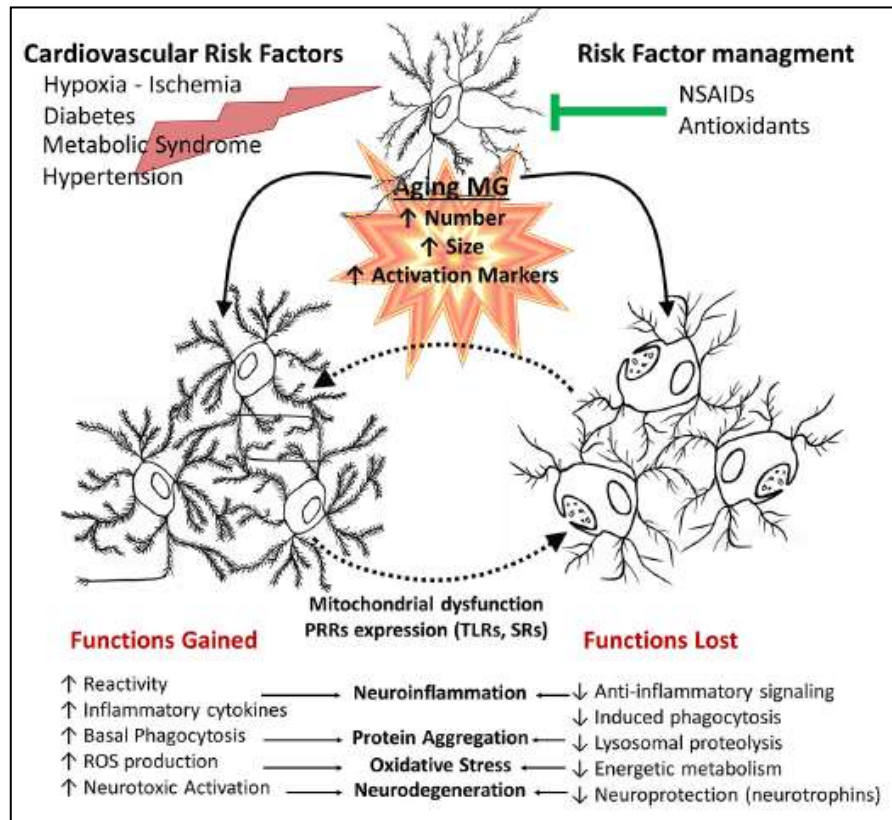


Figura 9. Activación de la microglía. **Fuente:** von Bernhardt R, Eugenín-von Bernhardt L, Eugenín J. Microglial cell dysregulation in brain aging and neurodegeneration. Front Aging Neurosci. 2015;7:124.

Bajo condiciones de estrés crónico, las células endoteliales regulan la expresión de moléculas de adhesión celular (CAMs), como son la molécula 1 de adhesión intercelular (ICAM-1), la molécula 1 de adhesión de células vasculares (VCAM-1) y la selectina E. También se observa un aumento de citocinas y de la proteína proinflamatoria proteína C reactiva. Estos marcadores de disfunción endotelial se encuentran elevados en la EA. Como consecuencia de la inflamación se produce disfunción endotelial, ya que aumenta la adhesión de leucocitos y la permeabilidad de la barrera por la alteración de las TJ (35, 44).

Además, las alteraciones en las funciones metabólicas cerebrovasculares pueden provocar la liberación de factores inflamatorios. En los microvasos cerebrales de pacientes con EA se ha observado un aumento de factores inflamatorios como el factor de necrosis tumoral (TNF), interleucinas (IL-1B, IL-6), quimiocinas (proteína quimioatrayente de monocitos 1 (MCP-1), IL-8), moléculas de adhesión de leucocitos y MMP. La activación de astrocitos mediante citocinas, como TNF- α o interferón (INF- γ), incrementan los niveles de APP, BACE1 y la producción de

péptido A β . Este a su vez, promueve la liberación de mediadores inflamatorios (MCP-1, IL-1 β , IL-6) por parte del endotelio (11). Los efectos proinflamatorios y tóxicos del péptido A β en neuronas co-cultivadas con células gliales se ven dificultados por inhibidores de la NOSi. Por tanto, el péptido A β estimula la producción de NO, que es también marcador proinflamatorio de la activación microglial (45).

Así, la microvasculatura cerebral participa en un ciclo destructivo en el que la inflamación precede a la deposición de péptido A β y este, a su vez, promueve la liberación de mediadores inflamatorios (44).

Por otro lado, se ha demostrado que la alteración vascular puede causar una disrupción del pie astrocítico, que es posterior a la activación microglial. Esto puede deberse a que, durante la inflamación, los astrocitos sufren degeneración en su anclaje a la membrana basal vascular causada por la liberación de MMP, lo que puede originar deterioro cognitivo (41).

Por otro lado, el glicocálix, un delgado recubrimiento de glucoproteína en el lado luminal endotelial, que permite el paso de las células sanguíneas, puede degradarse debido a inflamación excesiva. Esto supone un mayor grado de adhesión celular en el endotelio que puede aumentar la resistencia en esa zona, cambiar el gradiente de presión o el CBF (19).

6.2.3. Óxido nítrico endotelial (NOe) y neurodegeneración

El NOe es una molécula esencial, responsable de la protección neurovascular, debido a sus funciones en la regulación de los mecanismos vasculares, metabólicos, inmunes y en la función cognitiva (46, 47). La disminución en la biodisponibilidad de NOe puede ser fundamental para explicar la relación entre las lesiones a nivel vascular y la neurodegeneración ya que es uno de los primeros mediadores afectados por el estrés oxidativo y la inflamación inducidos por los factores de riesgo cardiovascular (41, 46).

A continuación, se exponen las acciones del NOe que son importantes en la función neurovascular, así como los mecanismos moleculares que relacionan la disminución de NOe con el deterioro cognitivo y la EA.

- NOe y función neurológica

▪ Flujo sanguíneo cerebral (CBF)

El NOe es una de las principales moléculas implicadas en el mecanismo de autorregulación del CBF debido a su función vasodilatadora. Las disfunciones endoteliales pueden reducir el CBF, necesario para cubrir las necesidades energéticas de los componentes celulares. Un continuo descenso del CBF causa alteraciones en el aprendizaje, en la memoria y en la función cognitiva, que resultan en demencia (30).

▪ Función regenerativa del cerebro

Estudios experimentales en animales demostraron que la producción de NOe tiene un papel relevante en la regulación de la función regenerativa del cerebro. La pérdida de producción de NOe reduce la proliferación y migración de progenitores neuronales. Además, en el cerebro isquémico de ratones con deficiencia en NOe se observó una reducción en la expresión del factor neurotrófico derivado del cerebro (BDNF). Esto puede hacer más débil al tejido neuronal y agravar cambios neurodegenerativos, facilitando el desarrollo de la EA (28).

▪ Función sináptica y cognitiva

La producción tónica del NOe es fundamental para la función sináptica del hipocampo. En estudios en animales se evidenció que la vía de señalización NO/GMPc es fundamental para la formación de la memoria, lo que demuestra que la pérdida de NOe causada por la exposición prolongada a factores de riesgo vascular, influye en el deterioro de la función neuronal y cognitiva (28).

El hipocampo es una de las primeras regiones afectadas en la EA. En las personas está implicado en la formación de nuevos recuerdos e información recién aprendida. Sin embargo, en los ratones, es responsable del aprendizaje y la memoria espacial. En ensayos experimentales que evalúan estas habilidades, los ratones con NOSe deficiente (NOSe-/-) mostraron un mayor número de errores y, además, se observaron niveles más altos de APP y de péptido A β -40 en su hipocampo (48).

Por otro lado, el NO actúa como mensajero, proporcionando un mecanismo de retroalimentación positiva, para mantener la liberación presináptica de glutamato que se une a

los receptores NMDA reforzando la memoria. También regula la S-nitrosilación de proteínas implicadas en la transmisión sináptica (41).

▪ **Marcadores microgliales**

En ratones NOSe^{-/-} se observó un aumento en la expresión de un grupo de marcadores microgliales de diferenciación (CD68), de la molécula adaptadora de unión a calcio (iba-1) y del complejo mayor de histocompatibilidad (MCH II). Esto muestra que la microglía puede detectar la pérdida de NOe. Además, la inactivación genética de NOSe también provoca un aumento en los niveles cerebrales de citocinas como el factor estimulante de colonias de granulocitos y macrófagos (GM-CSF), la IL-1 α y la proteína inflamatoria de macrófagos-1b (MIP-1 β) (28).

Estos resultados sugieren que la pérdida de NOe promueve la inflamación en el cerebro y, por consiguiente, puede tener efectos dañinos en el tejido neuronal que contribuyan al deterioro cognitivo (28).

- NOe y expresión y procesamiento de la APP

Diversos estudios tratan de determinar la relación entre el NOe y la expresión y procesamiento de la APP. En un estudio realizado en CEMC humanas, se observó un aumento de los niveles de APP, BACE1 y péptido A β tras la inhibición de la NOSe por acción de N (G)-nitro-L-arginina metil éster (L-NAME). Estos niveles se atenúan tras añadir L-arginina, sustrato específico de la NOSe. El bloqueo genético de la NOSe también causa aumentos similares de APP y BACE1 (49).

En la microvasculatura de ratones NOSe^{-/-}, también se ha observado que la disminución de NOe resulta en una mayor expresión de APP, BACE1 y en un aumento de péptido A β en el tejido cerebral. Sin embargo, no se mostraron diferencias en otras enzimas secretasas, lo que hace pensar que el NO es selectivo para BACE1 (49).

Además, se ha demostrado que NOe inhibe la expresión de APP y BACE1 y reduce la producción de péptido A β en los microvasos y en el parénquima cerebral. Estos datos evidencian la función protectora del NOe y señalan a la vía NO/GMPc como un objetivo para el tratamiento o prevención del DCL o la EA, debido a que previene el procesamiento amilodogénico excesivo de la APP (46, 49).

Por otro lado, la evidencia indica una correlación negativa entre la expresión de NOe y la carga de lesión vascular, lo que indica que la NOSe podría ser un modulador de las proteínas de transporte endoteliales del péptido A β , LRP-1 y RAGE (28).

- NOe y proteína Tau

La fosforilación de Tau está controlada por una red de cinasas y fosfatasas cuyo equilibrio es necesario para mantener la homeostasis de Tau y prevenir la neurotoxicidad (50).

Se estudió si la pérdida crónica de NOe afecta a proteínas cinasas involucradas en la fosforilación de la Tau. Para ello, en ratones APP/PS1/NOSe^{-/-}, se examinaron los niveles de Cdk5 y sus activadores, p35 y p25. Se observó un aumento en la relación p25/p35, indicador del aumento de la actividad de Cdk5. El incremento en los niveles de p25 por la calpaína, lleva a una activación aberrante de Cdk5, promoviendo la fosforilación de la Tau mientras que la pérdida de NOe no modificó otras cinasas. Sin embargo, no se observaron alteraciones en la fosforilación de la Tau en el tejido cerebral de ratones NOSe^{-/-} (51) demostrando que la falta de NOSe solo, no es suficiente para provocar la hiperfosforilación de la Tau a pesar del aumento de p25 (50).

Se puede concluir que el NOe reduce la fosforilación de la Tau en neuronas. Esto es debido a que suprime la actividad de la calpaína, lo que reduce los niveles de p25 y, por tanto, la actividad de Cdk5 (figura 10). El papel de la calpaína y el impacto de la reducción de Tau fosforilada en el plegamiento, agregación y función sináptica de Tau aún no se han establecido (50).

Así, la disfunción endotelial causada por factores de riesgo vascular, junto con el péptido A β , podrían promover la fosforilación de Tau y, posiblemente, su mal plegamiento, agregación y neurotoxicidad (50).

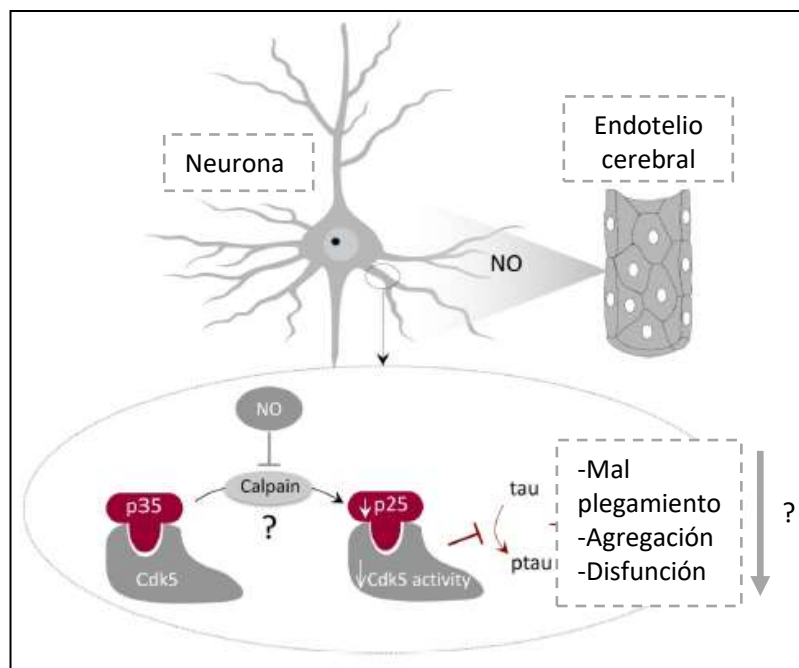


Figura 10. NOe reduce la fosforilación de Tau en neuronas. **Fuente:** Iadecola C. Untangling Neurons with Endothelial Nitric Oxide. *Circ Res.* 2016;119(10):1052-1054.

6.2.4. Posibilidades terapéuticas

Un mayor conocimiento de las bases moleculares del vínculo entre la disfunción neurovascular y la neurodegeneración permitirá desarrollar nuevas terapias. Por lo descrito anteriormente, la vía NO/GMPc se convierte en un objetivo terapéutico (17).

Se investigan diferentes maneras para potenciar esta vía, como los inhibidores de las PDEs o los donadores de NO.

Al tratar las CEMC con sildenafil, un inhibidor selectivo de PDE5, se observó una disminución en los niveles de APP y BACE1, demostrando que el NO liberado por la NOSe disminuye los niveles de APP, BACE1 y péptido A β mediante el aumento de GMPc en las CEMC (49).

La inhibición de las PDEs en el cerebro (principalmente las isoformas 2, 5 y 9), incrementa los niveles de GMPc, lo que, a su vez, puede prevenir la aparición de demencia senil (52). La PDE5 se expresa en varias áreas cerebrales (hipocampo y corteza cerebral) asociadas con la función cognitiva (52, 53). La evidencia sugiere que los inhibidores de PDE5, sildenafil, tadalafil y vardenafil, tendrían efectos beneficiosos en la cognición, pues mejoran el CBF y la memoria al aumentar el GMPc (53). Además, la PDE9 tiene una gran afinidad por el GMPc, lo que ha

resultado en el desarrollo de inhibidores selectivos de PDE9, mostrándose como potenciadores de la memoria y de la plasticidad sináptica (52).

En estudios experimentales, los donadores de NO, entre los que se incluyen nitroprusiato de sodio, nitratos de isosorbida o derivados de molsidomina, se emplearon para compensar la baja biodisponibilidad de NO en condiciones fisiopatológicas. El aumento de la concentración de NO en regiones cerebrales de ratones es esencial en los procesos de aprendizaje y memoria y, además, aumenta el CBF (54, 55). Sin embargo, estos compuestos que liberan NO libre podrían ser ineficaces en las patologías neurológicas que implican inflamación y estrés oxidativo, debido a que el aumento del estrés oxidativo disminuye directamente la biodisponibilidad de NO (55).

Por otro lado, los S-nitrosotioles como S-nitrosoglutatión (GSNO) y S-nitroso- N-acetilpenicilamina (SNAP) parecen proporcionar una protección eficaz. El GSNO es un portador endógeno de NO, implicado en la vía NO/GMPc o en la S-nitrosilación, con propiedades antiinflamatorias, antioxidantes y vasoprotectoras que puede ser útil para mejorar las funciones neurocognitivas en condiciones de hipoperfusión cerebral crónica ya que, en estudios experimentales, mejora los procesos de aprendizaje y memoria, reduce los niveles de péptido A β y las moléculas inflamatorias. Estas características lo convierten en un prometedor fármaco basado en NO para el tratamiento de complicaciones neurovasculares asociadas con DCL y EA (55).

7. DISCUSIÓN

Esta revisión pretende mostrar la implicación de la alteración neurovascular en la EA. Se propone que la disfunción endotelial, en concreto la disminución en la biodisponibilidad de NOe, puede ser importante en su patogénesis (28).

La etiología de la EA no se conoce con exactitud, por ello, se han propuesto diversas hipótesis que proponen mecanismos que conducen a la neurodegeneración característica de esta enfermedad.

Una de las hipótesis más aceptadas es la hipótesis de la cascada amiloide. Las placas amiloides y los ovillos neurofibrilares son los signos histopatológicos de la EA por lo que se plantea que estas estructuras son las responsables de su desarrollo. La hipótesis de la cascada amiloide defiende el papel de la APP y de su procesamiento proteolítico como esenciales en la fisiopatología de la EA (11, 39). Por otro lado, la hipótesis de la proteína Tau hiperfosforilada plantea que su hiperfosforilación lleva a la pérdida de sus funciones y a la formación de ovillos neurofibrilares (12).

La deposición y agregación de péptido A β y la formación de los ovillos neurofibrilares, serían responsables de la disfunción y muerte neuronal, resultando en la neurodegeneración y demencia que se asocian con el deterioro cognitivo y la EA (11).

Sin embargo, otras publicaciones contradicen esta teoría reportando que el grado de deposición de péptido A β cerebral no se correlaciona con la gravedad de la función cognitiva o la existencia de abundantes placas amiloides y ovillos neurofibrilares en pacientes con función cognitiva normal (11, 39). Por tanto, las placas amiloides y los ovillos neurofibrilares podrían no ser la causa del desarrollo de la EA, sino su consecuencia. De este modo, aparece la hipótesis vascular que defiende que la disfunción de la UNV tiene un papel importante en la patogénesis de varias enfermedades neurodegenerativas, incluida la EA y plantea que el daño en la microvasculatura cerebral inicia su desarrollo (17, 18).

La disfunción neurovascular causa neurodegeneración a través de la alteración de la BHE y de la disminución del CBF. Como consecuencia, el aporte de nutrientes y oxígeno al cerebro se reduce, mientras que aumenta la acumulación de sustancias neurotóxicas como el péptido A β , que se relaciona con una hiperfosforilación de la Tau (11, 17, 18).

Las CEMC forman parte de la estructura de la BHE y determinan sus características (22). Se ha encontrado que el daño endotelial podría preceder a otras alteraciones vasculares. Considerando que el NOe es una de las principales moléculas generadas por las CEMC y que la vía NO/GMPc es fundamental en el mantenimiento de la homeostasis cerebral, se ha propuesto esta vía de señalización para relacionar la disfunción endotelial con la neurodegeneración (46).

La disfunción endotelial se caracteriza por la disminución en la producción y en la biodisponibilidad de NOe. Esto nos ha llevado a revisar las alteraciones vasculares que modifican los niveles de NOe y la relación entre el NOe y la neurodegeneración (28, 30).

Entre las principales alteraciones a nivel endotelial que se observan en la EA se encuentran el estrés oxidativo, la hipoperfusión/hipoxia y los procesos inflamatorios. El estrés oxidativo y la sobreproducción de ERO causan disfunción de la BHE y disminución en la biodisponibilidad de NOe por reacción con el superóxido o alteración de la homeostasis del Ca^{+2} , entre otras (11, 31). Otras publicaciones evidencian la asociación de los factores de riesgo vascular con la EA ya que asocian esta con la disminución del CBF. La hipoperfusión/ hipoxia provoca disfunción endotelial, estrés oxidativo e inflamación. Además, la inflamación altera la permeabilidad de la BHE, contribuyendo a la disfunción endotelial (11, 39).

La producción de NOe podría tener un efecto neuroprotector. Se ha encontrado que la disminución en la biodisponibilidad de NOe podría relacionarse con la neurodegeneración, debido a su implicación en la función cognitiva y a su asociación con la expresión y el procesamiento de la APP y con la fosforilación de la proteína Tau (28, 46, 49, 50). Por el contrario, la sobreproducción de NO producido por NOSn y NOSi se relaciona con daño vascular y toxicidad neuronal (25, 26).

8. CONCLUSIONES

La disfunción neurovascular podría iniciar un mecanismo patogénico que contribuye al desarrollo de la EA a través de las alteraciones vasculares cerebrales que causan disfunción de la BHE y disminución del CBF.

Algunas de las alteraciones vasculares que dan lugar a la disfunción endotelial, presentada como una disminución de NOe, son el estrés oxidativo y la disfunción mitocondrial, la hipoperfusión/hipoxia y la inflamación.

La disminución en la biodisponibilidad de NOe se relaciona con la neurodegeneración. Las funciones neurológicas en las que está implicado como la regulación del CBF, la función regenerativa del cerebro o la función sináptica y cognitiva se verán afectadas. Además, el NOe se asocia con una disminución en la expresión y procesamiento de la APP y, por consiguiente, en la producción de péptido A β y también con una reducción en la fosforilación de Tau en las neuronas. Por tanto, el NOe tiene un efecto neuroprotector.

La vía de señalización NO/GMPc está involucrada en las alteraciones vasculares que dan lugar a la disfunción endotelial y a la neurodegeneración, por lo que los fármacos que actúan sobre esta vía se estudian como una posible opción terapéutica para el DCL y la EA.

9. BIBLIOGRAFÍA

1. Daneman R, Prat A. La barrera hematoencefálica. *Cold Spring Harb Perspect Biol.* 2015;7(1):a020412.
2. Mangialasche F, Kivipelto M, Solomon A, Fratiglioni L. Dementia prevention: current epidemiological evidence and future perspective. *Alzheimers Res Ther.* 2012;4(1):6.
3. Gil Gregorio P, Martín Sánchez J. Demencia. En: *International Marketing & Communication, S.A., coordinador. Tratado de geriatría para residentes.* Madrid: Sociedad Española de Geriatría y Gerontología; 2006. p.173-188.
4. Alzheimer's Disease International. Informe Mundial sobre el Alzheimer 2019: Actitudes hacia la demencia. Londres: Alzheimer's Disease International;2019.
5. Garre-Olmo J. Epidemiología de la enfermedad de Alzheimer y otras demencias. *Rev Neurol.* 2018;66(11):377-386.
6. Villarejo Galende A, Eimil Ortiz M, Llamas Velasco S, et al. Informe de la Fundación del Cerebro. Impacto social de la enfermedad de Alzheimer y otras demencias. *Neurología.* 2017.
7. Toledo Atucha J. Epidemiología descriptiva y analítica de la enfermedad de Alzheimer. *Alzheimer. Real Invest Demenc.* 2011;47:16-23.
8. Association Alzheimer. 2019 Alzheimer's disease facts and figures. *Alzheimer's Dement: The Journal of the Alzheimer's Association.* 2019;15(3):321-387.
9. Peña-Casanova J. Enfermedad de Alzheimer. Del diagnóstico a la terapia: conceptos y hechos. Barcelona: Fundación "la caixa"; 1999.
10. Reynaldo Fernández G, Pardo Andréu G, Guevara García M, Cascudo Barral N, Carrasco García MR. Teorías acerca de los mecanismos celulares y moleculares en la enfermedad de Alzheimer. *Rev cubana med.* 2008;47(3):1-12.
11. Rius-Pérez S, Tormos AM, Pérez S, Taléns-Visconti R. Patología vascular: ¿causa o efecto en la enfermedad de Alzheimer? *Neurología.* 2018;33(2):112-120.
12. Tiwari S, Atluri V, Kaushik A, Yndart A, Nair M. Alzheimer's disease: pathogenesis, diagnostics, and therapeutics. *Int J Nanomedicine.* 2019;14:5541-5554.

13. Du X, Wang X, Geng M. Alzheimer's disease hypothesis and related therapies. *Transl Neurodegener.* 2018;7(1):1-7.
14. Hampel H, Mesulam M-, Cuello AC, Farlow MR, Giacobini E, Grossberg GT, et al. The cholinergic system in the pathophysiology and treatment of Alzheimer's disease. *Brain.* 2018;141(7):1917-1933.
15. Sanabria-Castro A, Alvarado-Echeverría I, Monge-Bonilla C. Molecular Pathogenesis of Alzheimer's Disease: An Update. *Ann neurosci.* 2017;24(1):46-54.
16. Rubio-Pérez JM, Morillas-Ruiz JM. A Review: Inflammatory Process in Alzheimer's Disease, Role of Cytokines. *Scientific World Journal.* 2012;2012:756357.
17. Zlokovic BV. Neurovascular pathways to neurodegeneration in Alzheimer's disease and other disorders. *Nat Rev Neurosci.* 2011;12(12):723-738.
18. Nelson AR, Sweeney MD, Sagare AP, Zlokovic BV. Neurovascular dysfunction and neurodegeneration in dementia and Alzheimer's disease. *Biochim Biophys Acta.* 2016;1862(5):887-900.
19. Erdener ŞE, Dalkara T. Small Vessels Are a Big Problem in Neurodegeneration and Neuroprotection. *Front Neurol.* 2019;10:889.
20. Yamazaki Y, Kanekiyo T. Blood-Brain Barrier Dysfunction and the Pathogenesis of Alzheimer's Disease. *Int J Mol Sci.* 2017;18(9):1965.
21. Escobar Alfonso, Gómez González Beatriz. Barrera hematoencefálica. Neurobiología, implicaciones clínicas y efectos del estrés sobre su desarrollo. *Rev Mex Neuroci.* 2008; 9(5):395-405.
22. Domínguez A, Álvarez A, Suarez-Merino B, Goñi-de-Cerio F. Afecciones neurológicas y barrera hematoencefálica. Limitaciones y estrategias para la liberación de fármacos al cerebro. *Rev Neurol.* 2014;58:213-214.
23. Wang F, Cao Y, Ma L, Pei H, Rausch WD, Li H. Dysfunction of Cerebrovascular Endothelial Cells: Prelude to Vascular Dementia. *Front Aging Neurosci.* 2018;10:376.

24. González-Marrero I, Castañeyra-Ruiz L, Castañeyra-Ruiz M, González-Toledo JM, Carmona-Calero EM. Transporte del β -amilode a través de las barreras cerebrales y su posible implicación en el desarrollo de la enfermedad de Alzheimer. *Majorensis*. 2014;10:7-15.
25. Picón-Pagès P, Garcia-Buendia J, Muñoz FJ. Functions and dysfunctions of nitric oxide in brain. *BBA - Molecular Basis of Disease*. 2019;1865(8):1949-1967.
26. Förstermann U, Sessa WC. Nitric oxide synthases: regulation and function. *Eur Heart J*. 2012;33(7):829-837.
27. Domek-Łopacińska KU, B. Strosznajder J. Cyclic GMP and Nitric Oxide Synthase in Aging and Alzheimer's Disease. *Mol Neurobiol*. 2010;41:129-137.
28. Katusic ZS, Austin SA. Endothelial nitric oxide: protector of a healthy mind. *Eur Heart J*. 2014;35(14):888-894.
29. Rang HP, Dale MM, Ritter JM, Flower RJ, Henderson G. Óxido nítrico. En: Rang HP, Ritter JM, Flower RJ, Henderson G, editores. *Rang y Dale Farmacología*. 7a ed. Barcelona: Elsevier; 2012. p. 237-245.
30. Zhu J, Song W, Li L, Fan X. Endothelial nitric oxide synthase: a potential therapeutic target for cerebrovascular diseases. *Mol Brain*. 2016;9(1):30.
31. Carvalho C, Moreira PI. Oxidative Stress: A Major Player in Cerebrovascular Alterations Associated to Neurodegenerative Events. *Front Physiol*. 2018;9:806.
32. Aliev G, Palacios HH, Gasimov E, Obrenovich ME, Morales L, Leszek J, et al. Oxidative Stress Induced Mitochondrial Failure and Vascular Hypoperfusion as a Key Initiator for the Development of Alzheimer Disease. *Pharmaceuticals (Basel)*. 2010;3(1):158-187.
33. Busija DW, Katakam PV. Mitochondrial Mechanisms in Cerebral Vascular Control: Shared Signaling Pathways with Preconditioning. *J Vasc Res*. 2014;51(3):175-189.
34. Asif M, Soiza R, McEvoy M, Mangoni A. Asymmetric Dimethylarginine: A Possible Link between Vascular Disease and Dementia. *Curr Alzheimer Res*. 2013;10(4):347-356.
35. Maiuolo J, Gliozzi M, Musolino V, Carresi C, Nucera S, Macrì R, et al. The Role of Endothelial Dysfunction in Peripheral Blood Nerve Barrier: Molecular Mechanisms and Pathophysiological Implications. *Int J Mol Sci*. 2019;20(12):3022.

36. Di Marco LY, Venneri A, Farkas E, Evans PC, Marzo A, Frangi AF. Vascular dysfunction in the pathogenesis of Alzheimer's disease—A review of endothelium-mediated mechanisms and ensuing vicious circles. *Neurobiol Dis.* 2015;82:593-606.
37. d'Uscio LV, He T, Santhanam AV, Katusic ZS. Endothelium-specific amyloid precursor protein deficiency causes endothelial dysfunction in cerebral arteries. *J Cereb Blood Flow Metab.* 2018;38(10):1715-1726.
38. Lamoke F, Mazzone V, Persichini T, Maraschi A, Harris MB, Venema RC, et al. Amyloid β peptide-induced inhibition of endothelial nitric oxide production involves oxidative stress-mediated constitutive eNOS/HSP90 interaction and disruption of agonist-mediated Akt activation. *J Neuroinflammation.* 2015;12(1):84.
39. Kelleher RJ, Soiza RL. Evidence of endothelial dysfunction in the development of Alzheimer's disease: Is Alzheimer's a vascular disorder? *Am J Cardiovasc Dis.* 2013;3(4):197-226.
40. Koizumi K, Wang G, Park L. Endothelial Dysfunction and Amyloid- β -Induced Neurovascular Alterations. *Cell Mol Neurobiol.* 2016;36(2):155-165.
41. Hort J, Vališ M, Kuča K, Angelucci F. Vascular Cognitive Impairment: Information from Animal Models on the Pathogenic Mechanisms of Cognitive Deficits. *Int J Mol Sci.* 2019;20(10):2405.
42. von Bernhardt R, Eugénín-von Bernhardt L, Eugénín J. Microglial cell dysregulation in brain aging and neurodegeneration. *Front Aging Neurosci.* 2015;7:124.
43. Pomilio CJ. Alteraciones en el endotelio y la glía en el hipocampo del ratón transgénico PDAPP, modelo de la Enfermedad de Alzheimer. Interacción entre componentes de la unidad neurovascular. [Tesis doctoral]. Argentina: Facultad de ciencias exactas y naturales., Universidad de Buenos Aires (UBA); 2018.
44. Grammas P. Neurovascular dysfunction, inflammation and endothelial activation: Implications for the pathogenesis of Alzheimer's disease. *J Neuroinflammation.* 2011;8:26.
45. Yuste JE, Tarragon E, Campuzano CM, Ros-Bernal F. Implications of glial nitric oxide in neurodegenerative diseases. *Front Cell Neurosci.* 2015;9:322.
46. Katusic ZS, Austin SA. Neurovascular Protective Function of Endothelial Nitric Oxide-Recent Advances. *Circ J.* 2016;80(7):1499-1503.

47. Stephan BCM, Harrison SL, Keage HAD, Babateen A, Robinson L, Siervo M. Cardiovascular Disease, the Nitric Oxide Pathway and Risk of Cognitive Impairment and Dementia. *Curr Cardiol Rep.* 2017;19(9):87.
48. Austin SA, Santhanam AV, Hinton DJ, Choi D, Katusic ZS. Endothelial nitric oxide deficiency promotes Alzheimer's disease pathology. *J Neurochem.* 2013;127(5):691-700.
49. Austin SA, Santhanam AV, Katusic Z. Endothelial Nitric Oxide Modulates Expression and Processing of Amyloid Precursor Protein. *Circ Res.* 2010;107(12):1498-1502.
50. Iadecola C. Untangling Neurons With Endothelial Nitric Oxide. *Circ Res.* 2016;119(10):1052-1054.
51. Austin SA, Katusic ZS. Loss of Endothelial Nitric Oxide Synthase Promotes p25 Generation and Tau Phosphorylation in a Murine Model of Alzheimer's Disease. *Circ Res.* 2016;119(10):1128-1134.
52. García-Osta A, Cuadrado-Tejedor M, García-Barroso C, Oyarzábal J, Franco R. Phosphodiesterases as therapeutic targets for Alzheimer's disease. *ACS Chem Neurosci.* 2012;3(11):832-844.
53. Sheng M, Lu H, Liu P, Li Y, Ravi H, Peng SL, Diaz-Arrastia R, Devous MD, Womack KB. Sildenafil Improves Vascular and Metabolic Function in Patients with Alzheimer's Disease. *J Alzheimers Dis.* 2017;60(4):1351-1364.
54. Paul V, Ekambaram P. Involvement of nitric oxide in learning & memory processes. *Indian J Med Res.* 2011;133(5):471-478.
55. Won JS, Kim J, Annamalai B, Shunmugavel A, Singh I, Singh AK. Protective role of S-nitrosoglutathione (GSNO) against cognitive impairment in rat model of chronic cerebral hypoperfusion. *J Alzheimers Dis.* 2013;34(3):621-635.

10. AGRADECIMIENTOS

A mi tutora, Dolores Viña Castelao, por su dedicación y formación adquirida durante la preparación del TFG.

A mis amigos y familia, en especial, a mis padres y a mi hermana por apoyarme durante esta etapa académica y por todo.